

Oponentský posudok diplomovej práce

„Charakterizace mechanismu funkční koordinace exprese dipeptidylpeptidasy-IV a proteínu aktivovaných fibroblastů α “

Autor diplomovej práce: Lenka Kotačková

Predložená diplomová práca je v celkovom rozsahu 86 strán, včetně 88 citácií relevantných vedeckých prací, ktoré boli citované správne. Práca má klasické, prehľadné členenie textu, ktorý je doplnený 14 obrázkami, 28 grafmi a 12 tabuľkami. Práca je dobre zrozumiteľná, bez preklepov, cudzie slová a skratky sú vysvetlené jak v texte, tak v zozname skratiek. Súčasťou diplomovej práce je i kópia prehľadného článku v anglickom jazyku, publikovaného v impaktovanom českom časopise, kde je autorka diplomovej práce prvým autorom.

V úvodnej stati poskytuje autorka literárny prehľad doplnený obrázkami zameraný na charakterizáciu jednotlivých členov skupiny „Dipeptidylpeptidázy-IV aktivitou a/nebo strukturou homologních molekul“, tzv. DASH. Je kladený dôraz na možné mechanizmy regulácie exprese dipeptidylpeptidázy-IV a fibroblastového aktivačného proteínu-alfa na posttranskripčnej, posttranslačnej a proteínovej úrovni.

Ciele diplomovej práce sú definované jasne a prehľadne v samostatnej kapitole. Hlavným cieľom práce je potvrdiť spoločnú expresiu dipeptidylpeptidázy-IV a fibroblastového aktivačného proteínu-alfa a navrhnúť možný spôsob koregulácie ich expresie. Na riešenie problému boli zvolené dva modely: (i) gliomové bunčné línie kultivované v prítomnosti a za deficitu rastových faktorov a (ii) dipeptidylpeptidázou-IV transfekované gliomové bunčné línie.

V kapitole Materiál a Metody je uvedené pozoruhodné spektrum metod, ktorými autorka disponovala a ktoré umožnili široký pohľad na študovanú problematiku. Z ich popisu je zrejmé, že autorka pracovala samostatne.

Výsledky sú spracované v prehľadných grafoch, tabuľkách a obrázkoch s odpovedajúcimi popismi. Rozsiahly prehľad získaných výsledkov stanovenia exopeptidázovej aktivity podobnej dipeptidylpeptidázy-IV a endopeptidázovej aktivity bunčných línií v kvetách a mikrotitračných deskách, spolu s výsledkami inhibičných štúdií, gelovej filtrácie a imunodetekcie jednotlivých DASH molekúl, patrične diskutovaných, svedčí o tom, že ciele diplomovej práce boli splnené. Autorka preukázala, že zvýšenie expresie dipeptidylpeptidázy-IV gliomovej bunčnej línie U87MG, navodenej deficitom rastových faktorov, je sprevádzané upreguláciou fibroblastového aktivačného proteínu-alfa. Na druhej strane, táto koregulácia nebola pozorovaná u dipeptidylpeptidázou-IV transfekovaných

bunečných linií U87 a U373. Z toho autorka vyvodzuje záver, že ide o koreguláciu dipeptidylpeptidázy-IV a fibroblastového aktivačného proteínu-alfa na génovej úrovni a nie na podklade funkčného dôsledku zvýšenej expresie dipeptidylpeptidázy-IV.

Diplomová práca Lenky Kotačkovej prináša radu výsledkov, ktoré sú v súlade s novodobými literárnymi údajmi a prispieva k bližšiemu poznaniu základnej regulácie na úrovni vybraných gliomových bunečných linií. Je zrejmé, že autorka mala jasnú predstavu o cieľoch práce a postupe ich riešenia. Predložená práca nadštandardne splňuje všetky požiadavky kladené na tento typ prací a nemám k nej žiadne kritické pripomienky.

K zamysleniu predkladám autorke 3 otázky:

- 1) Ako si autorka vysvetľuje pozorované zvýšenie enzymovej aktivity podobnej dipeptidylpeptidáze-IV u bunečných linií U87MG a U138MG v podmienkach deficitu rastových faktorov?
- 2) Jedným zo základov Vašej hypotézy je pozorované zvýšenie expresie dipeptidylpeptidázy-IV a fibroblastového aktivačného proteínu-alfa u vysoko maligných astrocytárných nádorov. Je známy funkčný dopad upregulácie týchto DASH molekúl na úrovni nádorových, eventuálne nenádorových buniek?
- 3) Plánujete ďalšie experimenty, resp. rozšírenie metod, ktorými by ste potvrdili, či ide o koreguláciu dipeptidylpeptidázy-IV a fibroblastového aktivačného proteínu-alfa na génovej úrovni a nie na podklade funkčného dôsledku zvýšenej expresie dipeptidylpeptidázy-IV?

Predloženú diplomovú prácu hodnotím jednoznačne kladne a doporučujem ju k obhajobe. Na základe úspešnej obhajoby doporučujem udelenie titulu Mgr. pred menom podľa stávajúcich predpisov.

V Praze dne 14. září 2009

Mgr. Jarmila Stremeňová, PhD.

Ústav biochemie a experimentální onkologie

1LF Univerzita Karlova v Praze

U Nemocnice 5

128 53 Praha 2